

【総説】

緑茶カテキンによる微生物制御と容器包装詰め緑茶飲料における安全性

松永 藤彦*, 稲津 早紀子

緑茶はタンニン的一种であるカテキン類を含有する。緑茶中のカテキン類は渋味や苦味を与え緑茶特有の味に寄与するだけでなく、微生物制御の機能性を有することが知られている。本稿では緑茶カテキンによる微生物制御メカニズムや、容器包装詰め清涼飲料水としての緑茶の安全性に焦点を定める。安全で美味しい容器包装詰め緑茶飲料の製造に役立てるために、食中毒原因菌や変敗原因菌に対する緑茶カテキンの静菌・殺菌効果について、既知の知見や課題をまとめる。

キーワード：容器包装詰め緑茶飲料、カテキン、微生物制御、食中毒、変敗

緒言

緑茶は日本の生活に深く浸透し、日常生活で最も頻繁に飲まれる飲料の一つである。日本の多くの家庭で緑茶を淹れて飲む習慣が根付いていたが、1985年に容器包装詰め緑茶飲料（以下容器詰め緑茶）が発売されて以来、緑茶を自分で淹れて飲む機会は減少し、代わりに容器詰め緑茶の消費が増加し続けている。令和2年度に実施された意識調査では容器詰め緑茶で緑茶を飲む機会の方が、自分で淹れたお茶を飲む機会を上回っている¹⁾。日本で製造される清涼飲料水の中で茶系飲料は品目別生産量の24.3%を占め最大であり、容器別ではPETボトルが大きなシェアを獲得している²⁾。容器詰め緑茶はPETボトル、缶、紙容器中での長期保存を前提とした商品であり、保存期間中に内部で食中毒原因菌や変敗原因菌が増殖してはならない。お茶を淹れてすぐに飲むのとは異なり、容器詰め緑茶には特有の微生物的安全性に関する問題が存在する。

容器詰め緑茶の安全性に最も寄与するのは、製造工程中の加熱殺菌である。それに加えて緑茶自身が含有するカテキン類にも微生物制御効果がある。カテキン類の微生物制御効果（静菌・殺菌作用）については、かなりの数の研究結果が報告されている。ただし、多くはカテキン類の機能性そのものに着目したものである。そこで、本稿ではカテキン類がもつ食中毒・変敗原因菌に対する微生物制御効果について、一般的な知見と合わせて、容器詰め緑茶に関連深いものを紹介する。

1. カテキンとは

植物はポリフェノールと総称される物質を含有する。ポ

リフェノールは色素や苦味、渋味の成分であり、ゴマのセサミン、果実のアントシアニン、茶葉のカテキンなどが知られている。

緑茶はカテキンを約10～15%含有する^{3,4)}。緑茶のカテキンは複数の種類からなり、主要4種はエピガロカテキンガレート（約59%）、エピガロカテキン（約19%）、エピカテキンガレート（約14%）、エピカテキン（約6%）である（緑茶抽出液中の主要カテキン構成比）^{3,4)}。本稿でこれらのカテキンを略す場合、エピガロカテキンガレートをEGCg、エピガロカテキンをEGC、エピカテキンガレートをECg、エピカテキンをECと記す。また、これらを総称してカテキン類と記す。

カテキン類には異性体が存在する。異性化は加熱によって促進される⁵⁾。容器詰め緑茶において製品液の殺菌は100℃を超える温度で実施され、一般的には121.1℃で10～20分間相当の殺菌を行う（ $F_0=10\sim20$ 分）⁶⁾。したがって、

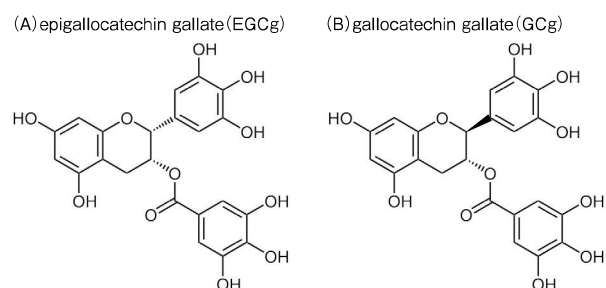


図1 (A) エピガロカテキンガレート(EGCg)および(B) ガロカテキンガレート(GCg)の構造。容器詰め緑茶では強い加熱による殺菌工程があるため、カテキン類の異性化が起こる。もとの構成比が高く微生物制御効果も高いEGCgからGCgへの異性化はその一例。

*連絡先, E-mail: fujihiko_matsunaga@tosyoku.ac.jp

容器詰め緑茶では、EGC g からGC g (ガロカテキンガレート), EGCからGC (ガロカテキン), EC g からCg (カテキンガレート), ECからC (カテキン) への異性化がおり、カテキン類の構成比が大きく変化していることが分かっている⁷⁻¹¹⁾。例えば、通常の淹れ方をした緑茶中では最も多いEGC g について、容器詰め緑茶中では異性化によってEGCgとGCg (図1) が約1 : 1の構成比になっている。緑茶中のカテキン類は50%程度が異性化しているとの報告がある⁸⁻¹¹⁾。

2. カテキン類の静菌・殺菌メカニズム

カテキン類による静菌・殺菌メカニズムは大きく分けると2つあると考えられている¹²⁻¹⁶⁾。1つ目は細胞表層の脂質やタンパク質への吸着による損傷効果、2つ目はカテキン類が発生する過酸化水素による殺菌効果である。間接的な観察ではあるが、カテキン類が細胞表層へ吸着することが示されている^{14,16)}。我々も、*Helicobacter pylori*においてカテキンが細胞膜結合性蛍光物質と競合し、蛍光染色効率が落ちる現象を観察している (図2)。また、カテキン類の中でもガロイル基を持つものは過酸化水素を発生し、微生物制御に寄与する¹⁷⁾。カテキン類の細胞表層への吸着と過酸化水素発生は、複合的に働いて静菌・殺菌効果を発揮していると考えられる^{15,18)}。また、カテキン類による微生物

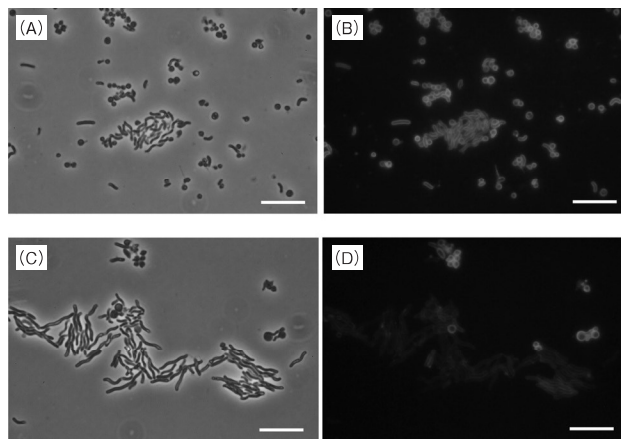


図2 細胞膜を染色する蛍光色素FM4-64でピロリ菌を染色した結果、カテキンで処理していないピロリ菌を位相差顕微鏡観察 (A) と蛍光顕微鏡観察 (B) とで比較すると、細胞表面がFM4-64で染色されていることがわかる。ECgで処理した細胞を位相差顕微鏡観察 (C) および蛍光顕微鏡観察 (D) すると、FM4-64の染色効率が落ちることがわかる。

制御効果はグラム陰性菌よりもグラム陽性菌に対しての方が高い。グラム陰性菌は特有の外膜構造を持つためカテキン類が細胞表層に吸着しにくいのが理由と考えられる¹⁶⁾。なお、緑茶のカテキン類は栄養細胞だけでなく、ボツリヌス菌の芽胞に対して制御効果を発揮することも示されている

表1 主要な食中毒・病原菌および変敗原因菌に対する緑茶カテキンの制御効果^{a)}

カテゴリー	微生物名	粗カテキン ^{b)}	緑茶浸出液		参考文献
		カテキン濃度 (mg/100mL)	カテキン濃度 ^{c)} (mg/100mL)	茶葉濃度 ^{d)} (% w/v)	
食中毒原因菌・病原菌	<i>Bacillus cereus</i> (セレウス菌)	12.5~60			12,19,21,27
	<i>Campylobacter jejuni</i> (カンピロバクター菌)	10		2~20	29,30,31
	<i>Clostridium botulinum</i> (ボツリヌス菌)	10~50	46.3*		19,20,22
	<i>Clostridium perfringens</i> (ウェルシュ菌)	40			21
	<i>Escherichia coli</i> (大腸菌)	25~200			12,27
	<i>Helicobacter pylori</i> (ピロリ菌)	6.4~60	8		27,28,31
	<i>Listeria monocytogenes</i> (リステリア菌)	50			12
	<i>Salmonella Enteritidis</i> (サルモネラ菌)	200			12
	<i>Staphylococcus aureus</i> (黄色ブドウ球菌)	12.5~200		2~20	12,21,27,29,30,33
	<i>Vibrio cholerae</i> (コレラ菌)	12.5~25		20	29,33
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (腸炎ビブリオ菌)	6.25~20		20	12,21,29,33
	<i>Yersinia enterocolitica</i>			2~20	30,33
変敗原因菌	<i>Bacillus licheniformis</i>		40*, 40~51.6		10,15,32
	<i>Bacillus subtilis</i>	25~200	57~62.5*, 209		10,12,26,27,32
	<i>Margalitia</i> (<i>Bacillus</i>) <i>shackletonii</i>		40*		15
	<i>Thermoanaerobacter thermosaccharolyticum</i>	10			27
	<i>Weizmannia</i> (<i>Bacillus</i>) <i>coagulans</i>	20~120			27,32

a) 異なる評価方法の結果であり必ずしも一貫したデータではないが、一般的緑茶のカテキン濃度との比較等に役立てる便宜のため取ってまとめた。

b) 緑茶から抽出した粗カテキンを用いた実験において、微生物制御効果 (静菌・殺菌) を発揮する濃度を示した。

c) 緑茶浸出液を用いた実験において、微生物制御効果 (静菌・殺菌) がみられるカテキン濃度を示した。120℃、4分間相当以上の加熱処理済み緑茶浸出液を用いて得た値を*印で示した。

d) 緑茶浸出液を用いた実験のうち、微生物制御効果 (静菌・殺菌) を発揮する浸出液を作成した際の茶葉濃度を示した (浸出液中のカテキン濃度は不明)。

る^{19,20)}。

強い加熱を受けた緑茶ではカテキン類の微生物制御効果が上昇することが分かっている。先に述べたように加熱によって異性化が進むが、抗菌効果の上昇は異性化というよりも重合したカテキン類の効果だと推測されている¹⁰⁾。なお、カテキン類の関連物質であり微生物制御効果を持つテアラビンは、加熱前後とも緑茶中にほとんど存在しない¹⁰⁾。

3. 食中毒原因菌や病原菌に対する微生物制御効果

カテキン類の静菌・殺菌作用は様々な食中毒原因菌や病原菌に対して有効であることが示されている^{3,12,18-22)}。代表的な食中毒原因菌・病原菌に対して、静菌・殺菌効果がみられるカテキン類の濃度を表1にまとめた。この表のデータは網羅的ではなく、評価方法も報告によって異なるので単純には解釈できないことに留意されたい。敢えてまとめれば、カテキン類の濃度が10~200mg/100mLの範囲で様々な食中毒原因菌と病原菌に対する微生物制御効果がみられる(表1)。一般的な容器詰め緑茶に含まれるカテキン類の濃度は1992年の調査(缶詰め)では27~50mg/100mL⁹⁾、2007年の調査(PETボトル詰め)では50~207mg/100mL²³⁾、2021年時点の飲料メーカー公表値(PETボトル詰め)では8~154mg/100mLである。したがって容器詰め緑茶中では、上述した食中毒菌や病原菌に対して一定の微生物制御効果が期待できると言える。

ここで、容器詰め緑茶製造のHACCPにおける生物的危害要因を考える。厚生労働省の総合衛生管理製造過程では清涼飲料水の危害要因微生物として、エルシニア・エンテロコリチカ、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター・ジェジュニ、カンピロバクター・コリ、クロストリジウム属菌、セレウス菌、病原大腸菌、リステリア・モノサイトゲネスを挙げていた。総合衛生管理製造過程制度自体はHACCPの制度化に伴い廃止されたが、危害要因微生物に変わりはないと考えられる。容器詰め緑茶にとって現実的に脅威が大きいのは、耐熱性芽胞を形成し加熱殺菌をくぐり抜ける可能性のあるクロストリジウム属菌とセレウス菌である。なかでも耐熱性が高く、かつ極めて強力な毒素を産生するクロストリジウム属のボツリヌス菌が重要な殺菌対象となる。このためボツリヌス菌に対してはボツリヌス菌を殺滅する条件として120℃で4分間相当以上の加熱殺菌が必要とされている($F_0=3.2$ 分以上)。他方で、ボツリヌス菌に対してはカテキン類の濃度10~50mg/100mLで微生物制御効果が現れ、毒素の産生も抑えることができる^{19,20,22)}(表1)。その他の危害要因微生物に対しても、カテキン類による静菌・殺菌効果が期待できる(表1)。

4. 変敗原因菌に対する微生物制御効果

容器詰め緑茶の製造では強い加熱殺菌を施す。したがって、変敗原因となりうるのは耐熱性芽胞を形成する菌で

ある。具体的には、*Bacillus*属(*B. subtilis*, *B. licheniformis*)、*Margalitia* (*Bacillus*) *shackletonii*^{注1)}、*Weizmannia* (*Bacillus*) *coagulans*^{注1)}、*Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*、*Clostridium* sp.^{注2)}が挙げられる^{15,23-25)}。これらの微生物に対するカテキン類の微生物制御効果を表1にまとめた。評価方法等が異なるため比較が難しいが、敢えてまとめれば10~209mg/100mLのカテキン類の濃度でこれらの微生物に対する静菌・殺菌効果がみられる。特にカテキン類への耐性が高いとみられる*W. coagulans*や*B. subtilis*を除けば、平均的な容器詰め緑茶に含まれるカテキン類の濃度で一定の制御が可能と考えられる。*B. subtilis*や*W. coagulans*はカテキン耐性が高く、また実際に緑茶から頻繁に分離される菌株である。カテキン類による静菌・殺菌効果はあくまで副次的な制御と考え、これらの菌株に対しては適正な加熱殺菌条件の設定が非常に重要である。

注1: *Bacillus*属は分類が見直され、*B. shackletonii*および*B. coagulans*は、それぞれ*Margalitia shackletonii*および*Weizmannia coagulans*とされた。

注2: 変敗緑茶から分離された菌株²⁵⁾。原著では類似菌種として*Thermoclostridium*属が挙げられている。

結 言

緑茶カテキン類の静菌・殺菌効果について多数の報告があるが、多くの場合は容器詰め緑茶の殺菌に匹敵する加熱を受けていない検体を用いた調査である(表1)。しかし、容器詰め緑茶に含まれるカテキン類は加熱殺菌工程を経て異性化する。また、加熱を経て形成されたカテキン類の重合により微生物制御効果が上がるとの推察もある¹⁰⁾。異性化したカテキン類の微生物制御効果や、加熱によって上昇する微生物制御効果の原因物質の特定は今後の研究を待つ必要がある。ただし、容器詰め緑茶中での微生物増殖には複数の要因が複合的に影響する。容器詰め緑茶の安全性をより具体的に推し測るには、実際の製品のように熱交換器等による加熱を経た緑茶を用いた検証が重要と考えられる。

一般に加熱殺菌工程は容器詰め緑茶の香りや味に負の影響を与える。容器詰め緑茶で食中毒や変敗を起こす微生物に対し、緑茶カテキンの効果を適正に見積もった上で過不足ない適正な加熱殺菌条件の設定を行えば、より美味しく安全な容器詰め緑茶の設計・製造を行うことができるであろう。

参考文献

- 1) 農林水産省：令和2年度 食料・農林水産業・農山漁村に関する意識・意向調査 緑茶の飲用に関する意識・意向調査結果。
<https://www.maff.go.jp/j/finding/mind/attach/pdf/index-64.pdf> (2021年6月30日)。
- 2) 一般社団法人全国清涼飲料連合会：清涼飲料水の品目別生産量シェア (2020年)。
<http://www.j-sda.or.jp/statistically-information/stati03.php> (2021年6月30日)。
- 3) 戸田眞佐子, 島村忠勝：茶の抗微生物作用について。日本食品微生物学会雑誌, 12, 227-234 (1996)。
- 4) 日本カテキン学会：カテキンのいろは。
<https://www.catechin-society.com/iroha.html> (2021年6月30日)。
- 5) Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, and H., *et al.* Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 57, 907-910 (1993)。
- 6) 横山寛行：緑茶飲料の製造法, ソフトドリンクス, 全国清涼飲料工業会・財団法人日本炭酸飲料検査協会監修, 487-495, 光琳, 京都 (2003)。
- 7) 末松伸一：容器詰緑茶飲料の三次機能性について。東洋食品工業短期大学紀要, 3, 1-3 (2015)。
- 8) 中村拓己, 浅田絵美, 永田佳子, 金澤秀子：緑茶飲料中カテキン類のCYP3A4による代謝系への阻害効果の解析。分析化学, 52, 769-773 (2003)。
- 9) 末松伸一, 久延義弘, 西郷英昭, 松田良子, 原京子, その他：容器詰茶類飲料の市販品調査と製造時の有効成分の安定性。東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書, 19, 79-88 (1992)。
- 10) 朝賀昌志, 村井恵子, 中西律子, 青山好男：加熱による緑茶浸出液の抗菌活性の増加。日本食品科学工学会誌, 47, 708-715 (2000)。
- 11) 小林千種, 中里光男, 山嶋裕季子, 川合由華, 立石恭也, その他：茶葉および茶飲料中のカテキン類、メチルキサンチン類及びアスコルビン酸の分析。東京衛研年報, 49, 135-143 (1998)。
- 12) 中山素一, 重宗尚文, 徳田一, 古田可菜子, 松下知世, その他：緑茶抽出物の抗菌活性とpHの影響。防衛防衛, 36, 439-448 (2008)。
- 13) Cui, Y., Oh, Y. J., Lim, J., Youn, M., Lee, I., *et al.* AFM study of the differential inhibitory effects of the green tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Food Microbiology*, 29, 80-87 (2012)。
- 14) Nakayama, M., Shigemune, N., Tsugukuni, T., Tokuda, H., and Miyamoto, T. Difference of EGCg adhesion on cell surface between *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* visualized by electron microscopy after novel indirect staining with cerium chloride. *Journal of microbiological methods*, 86, 97-103 (2011)。
- 15) 青山冬樹, 加藤一郎, 後藤慶一, 中山素一：茶系飲料における芽胞菌リスク。清涼飲料水における芽胞菌の危害とその制御。宮本敬久監修, 49-76, ILSI Japan, 東京 (2011)。
- 16) 生貝初, 原征彦, 大鶴洋, 島村忠勝：Epigallocatechin gallateの膜傷害作用に関する研究。日本化学療法学会雑誌, 46, 179-183 (1998)。
- 17) Arakawa, H., Maeda, M., Okubo, S., & Shimamura, T. Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, 277-281 (2004)。
- 18) 後藤慶一, 鈴木美奈子：カテキン。現場必携 微生物殺菌実用データ集サイエンスフォーラム。山本茂貴監修, 370-376, サイエンスフォーラム, 我孫子 (2005)。
- 19) Hara-Kudo, Y., Yamasaki, A., Sasaki, M., Okubo, T., Minai, Y., *et al.* Antibacterial action on pathogenic bacterial spore by green tea catechins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2354-2361 (2005)。
- 20) 原征彦, 渡辺真由美, 阪口玄二：茶飲料類に接種されたA型, B型ボツリヌス菌芽胞の動向。日本食品工業学会誌, 36, 375-379 (1989)。
- 21) 原征彦, 石上正：茶ポリフェノール類の食中毒細菌に対する抗菌活性。日本食品工業学会誌, 36, 996-999 (1989)。
- 22) 原征彦, 渡辺真由美：茶ポリフェノール類の抗菌活性に関する研究 II 茶ポリフェノール類のボツリヌス菌に対する抗菌作用。日本食品工業学会誌, 36, 951-955 (1989)。
- 23) 永田洋平, 藤井亮児, 菅原大輔：緑茶飲料中で生育する有芽胞細菌の性状。缶詰時報, 86, 369-381 (2007)。
- 24) 遠田昌人：清涼飲料。現場必携 微生物殺菌実用データ集サイエンスフォーラム。山本茂貴監修, 59-69, サイエンスフォーラム, 我孫子 (2005)。
- 25) 吉田衛市, 植松英治, 村松正敏：変敗緑茶飲料缶詰から分離した耐熱性高温性偏性嫌気性細菌。缶詰時報, 74, 659-668 (1995)。
- 26) 金子昌二, 栗林剛, 桑原秀明, 高波修一：茶系飲料における耐熱性菌の消長に関する研究。長野県工技センター研報, No.1, F20-F23 (2006)。
- 27) Sakanaka, S., Okubo, T., Akachi, S., Mabe, K., and Matsumoto, M.: Tables of data on the antimicrobial activities of green tea extracts. *Chemistry and Application of Green Tea*. Yamamoto, T., Juneja, L. R., & Kim, M. ed. 145-150, CRC Press, Boca Raton New York (1997)。
- 28) Mabe, K., Yamada, M., Oguni, I., & Takahashi,

- T. *In vitro* and *in vivo* activities of tea catechins against *Helicobacter pylori*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 43, 1788-1791 (1999).
- 29) 戸田真佐子, 大久保幸枝, 大西玲子, 島村忠勝: 日本茶の抗菌作用および殺菌作用について. 日本細菌学雑誌, 44, 669-672 (1989).
- 30) Yam, T. S., Shah, S., & Hamilton-Miller, J. M. T. Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. FEMS microbiology letters, 152, 169-174 (1997).
- 31) 稲津早紀子, 小柳津雄太郎, 橋本竜太, 松永藤彦: 未発表データ
- 32) 松永藤彦, 古谷文菜, 黒木美沙希, 稲津早紀子: 未発表データ
- 33) Toda, M., Okubo, S., Hiyoshi, R., & Shimamura, T. The bactericidal activity of tea and coffee. Letters in applied microbiology, 8, 123-125 (1989).